

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Zürich

[Direktor: Prof. Dr. W. Löffler].

Arbeit unter Leitung von PD. Dr. R. Hegglin.

**Untersuchungen über die
Aktivität der Adenosintriphosphatase im
Herzmuskel, als Beitrag zur Pathogenese
der sog. energetisch-dynamischen
Herzinsuffizienz.**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

Robert Münchinger

von Zürich

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. W. Löffler und P.D. Dr. R. Hegglin

Zürich 1953



VERLAG VON S. KARGER IN BASEL



I. Einleitung.

Bei einer besonderen Krankheitsgruppe — es handelt sich dabei vorwiegend um *Stoffwechselstörungen* — läßt sich mit großer Regelmäßigkeit eine *Verlängerung der QT-Dauer im EKG* und ein vorzeitiger Abbruch der hämodynamisch wirksamen Systole, kenntlich am *Vorfall des 2. Herztones*, beobachten. R. Hegglin deutete in seinen Arbeiten (1, 2, 3, 4) die verlängerte Kontraktionsdauer und das vorzeitige Einfallen des 2. Herztones infolge zu frühem Überwiegen des Aortendruckes über den Kammerdruck als *Adynamie des in seinem Energiestoffwechsel gestörten Myocards*.

In Anlehnung an Gremels (5, 6) hat Hegglin für dieses Syndrom die Bezeichnung «*energetisch-dynamische Herz-Insuffizienz*» (e. d. H. I.) vorgeschlagen. Untersuchungen von Engel (7), Mach (8), Hadorn (9), Plattner (10) und weiteren Forschern haben das klinische Syndrom bestätigt.

Die enge Beziehung der e. d. H. I. mit Störungen im Kohlehydratstoffwechsel, wie auch tierexperimentelle Untersuchungen von Schumann (11, 12), ließen zunächst vermuten, daß die Kontraktionsschwäche des Myocards durch eine Verminderung des Glycogengehaltes des Herzmuskels verursacht werde. Zur Abklärung dieser Frage wurde von H. Grauer und R. Hegglin (13) durch Veratrin- und Urethan-Intoxikation eine e. d. H. I. im Tierexperiment erzeugt und anschließend der Glycogengehalt im Herzmuskel bestimmt. Die Versuche ergaben jedoch, daß keine direkte Beziehung zwischen Glycogengehalt im Myocard und e. d. H. I. besteht. In weiteren Experimenten (Blockierung des Glycogenabbaues durch Monojodessigsäure) hat Grauer (14) bestätigen können, daß das

Glycogen und die glycogenolytischen Prozesse für die Tätigkeit des Herzmuskels unter normalen Verhältnissen nicht notwendig sind, sondern lediglich Reservesubstanz und Reservemechanismus für die Energiebereitung bei Sauerstoffmangelzuständen darstellen.

Nachdem die untergeordnete Bedeutung des Glycogens für die Pathogenese der e. d. H. I. feststand, drängte sich eine Prüfung der Beziehung zur Adenosintriphosphorsäure (ATP) auf, denn nach den heutigen Kenntnissen ist die ATP wahrscheinlich die einzige Substanz, welche unmittelbar die Energie für die Tätigkeit der Muskulatur liefert. (Engelhardt, 15; v. Muralt, 16; Rein, 17; Szent-Györgyi, 18; u. a.)

Für die Spaltung der ATP ist ein Enzym — die Adenosintriphosphatase (ATPase) — notwendig, welches 1931 von Jakobsen (19), 1932 von Barrenscheen und Lang (20) entdeckt worden ist. Engelhardt und Lyubimova (21) vertreten die Ansicht, daß die ATPase mit dem Myosin, dem kontraktile Element des Muskels identisch ist. Dagegen soll es Price und Cori (22) 1946, wenig später v. Muralt (16) und andern Forschern gelungen sein, das Ferment vom Myosin abzuspalten und rein darzustellen.

Die Bereitstellung der für die Kontraktion und Erschlaffung der Muskelfaser notwendigen Energie erfolgt durch die enzymatische Abspaltung des dritten, sehr energiereich gebundenen Phosphorsäure-Radikals der ATP, während verschiedene andere Prozesse nur der Resynthese der ATP dienen (v. Muralt, 16). Es muß deshalb angenommen werden, daß jede Verminderung der ATP-Menge und jede Beeinträchtigung der ATPase-Aktivität zu einer schweren Störung führt, und zwar am raschesten am Herzmuskel, da dieser wegen seiner dauernden Tätigkeit wie kein anderer auf intakte, energiebereitende- und übertragende Prozesse angewiesen ist.

Ausgehend davon, daß nach K. Bailey (23), Dubois und Potter (24), Engelhardt (15) und Szent-Györgyi (18) für eine maximale Aktivität der ATPase eine bestimmte Calcium-Ionenkonzentration notwendig ist, andererseits die calciumfällende Wirkung des Fluorids durch Ph. Handler (25) in Tierversuchen festgestellt worden war, hat H. Grauer (26, 27) den ATP-Gehalt im Rattenherzmuskel nach Fluorid-Einwirkung untersucht. Analoge Versuche wurden mit Oxalsäure — einer ebenfalls calciumfällenden Substanz durchgeführt. In all diesen Versuchen konnte im EKG die für Hypocalcaemie typische QT-Verlängerung gefunden werden. Wei-

tere ATP-Bestimmungen sind in gleicher Weise an Normaltieren und anoxaemisch gemachten Tieren vorgenommen worden.

Die Versuche ergaben, daß im Vergleich zu den Werten bei Normaltieren, der ATP-Gehalt bei Anoxaemie außerordentlich niedrig, bei Fluorid- und Oxalat-Intoxikationen jedoch praktisch unverändert war. Da aber auch bei Fluorid- und Oxalat-vergifteten Tieren bedeutende Atemstörungen auftraten, wäre deshalb auch in diesen Versuchen eine erhebliche Verminderung des ATP-Gehaltes gegenüber der Norm zu erwarten gewesen. *Die hohen Werte bei Fluorid- und Oxalat-vergifteten Tieren lassen eine durch Hypocalcaemie bedingte Verminderung der ATPase-Aktivität vermuten.* Diese Beobachtungen stimmen mit derjenigen Engelhardts (15) überein, welcher eine Herabsetzung der ATPase-Aktivität durch Zugabe von Fluorid-Ionen gefunden hatte.

Da neben Calcium auch *Natrium-* und *Kalium-Ionen* als *wichtige Aktivatoren der ATPase* genannt wurden (Banga, Szent-Györgyi, 28, 29, 18 u. a.), Hypochloraemie und Hypokaliaemie, wie eingangs erwähnt, ebenfalls zum Syndrom der e. d. H. I. führen, war es naheliegend, auf eine *enge Beziehung zwischen Adenosintriphosphatase-Aktivität und energetisch-dynamischer Herzinsuffizienz* zu schließen.

Wir stellten uns deshalb die Aufgabe, diese *Arbeitshypothese* durch *Aktivitätsuntersuchungen* zu prüfen, insbesondere *ob verschiedene Konzentrationen von Kalium-, Calcium- und Natriumchlorid eine Änderung der ATPase-Aktivität bewirken, ob die im Tierexperiment eine e. d. H. I. verursachenden Substanzen: Veratrin, Urethan, Fluorid und Oxalat die Aktivität der ATPase herabsetzen.*

Da uns weiter bekannt war, daß die herzwirksamen Glycoside (Strophantus- und Digitalis-Präparate) eine Änderung der QT-Dauer im EKG bewirken (Verkürzung), suchten wir *den Einfluß der herzwirksamen Glycoside auf die Aktivität der ATPase abzuklären.*

II. Untersuchungen.

A. Methodik.

Engelhardt (15), Bailey (23), Szent-Györgyi und Banga (18, 28, 30), H. H. Weber (31) u. a. haben *Methoden zur Darstellung von reinem Myosin* beschrieben. Gereinigtes Myosin besitzt jedoch nur geringe ATPase-Aktivität (ca. 10% des durch Calciumchlorid

aktivierten Myosins). Erst durch Zusatz von zweiwertigen Metallionen erhält es seine volle enzymatische Fähigkeit.

Mit Rücksicht auf die vorgesehenen Hemmungs- und Intoxikationsversuche arbeiteten wir deshalb in unseren Experimenten nicht mit gereinigtem Myosin, sondern mit einem *homogenisierten Muskelbrei*. Wir befolgten eine von K. Dubois und V. Potter (24) beschriebene Methode, welche wir nach eingehenden Versuchen für unsere Verhältnisse modifizierten.

Die Aktivität der ATPase wird nach Dubois und Potter (24) durch die Menge des abgespaltenen anorganischen Phosphates aus der ATP bestimmt, wobei definitionsgemäß eine ATPase-Einheit 1 γ Phosphat pro mg Frischgewebe während 15 Minuten Inkubation bei 37° spaltet.

Als Versuchstiere verwendeten wir normale Albinoratten von durchschnittlich 150 g Gewicht.

Die Tiere werden durch Kopfschlag getötet, der Thorax eröffnet, die Ventrikel von den Vorhöfen abgetrennt und durch Abtupfen auf Filtrierpapier vom anhaftenden Blut befreit. Auf einer Federwaage (Genauigkeit 1 mg) werden 250 mg Herzmuskelgewebe abgewogen, in einen eisgekühlten Porzellan-Mörser gebracht und mit der Schere in kleine Stücke zerteilt. Unter Zufügen von ca. 0,5 g reinstem Quarzsand sowie anfänglich 1 ml, später mehreren ml eiskaltem dest. Wasser, wird das Gewebe während 6—7 Minuten fein zerrieben. Zum Schluß werden unter Umrühren die restlichen der abgemessenen 50 ml dest. Wasser zugegeben.

1 ml von diesem homogenen Gewebepbrei (d. h. 5 mg Muskelgewebe) werden mit einer Lösung von

1,5 ml Veronal-Acetat-Puffer pH = 7,8,

1,5 ml ATP¹ (2 mg Adenosintriphosphorsaures Natrium + 2,4 mg Natriumchlorid + 1,5 ml Aqua dest.),

1,0 ml der in dest. Wasser gelösten aktivierenden oder hemmenden Substanz,

1,0 ml dest. Wasser,

vereinigt.

Die Lösungen werden vor der Beimischung des Gewebepbreies einige Minuten im Wasserbad vorgewärmt und sofort nach Zusatz des Herzmuskel-Homogenisates in den Thermostaten bei 37° ge-

¹ In Form des Handelspräparates *Atriphos* der Pharmaceutica Hungaria S. A., Budapest, durch die Vertreter Fa. Laboratori Biochemici S. A. in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt.

bracht. Nach genau 15 Minuten wird die Digestion durch Zugabe von 1,0 ml 50%ige Trichloressigsäure gestoppt und die Ansätze durch phosphatfreien Filter filtriert.

Die *Bestimmung des anorganischen Phosphates* erfolgte nach *Lohmann und Jendrassik* (32), wobei gegenüber der ursprünglichen Methode nach Vorschlag von *Kuttner und Cohen* (33), *Kuttner* und *Lichtenstein* (34) an Stelle von Eikogen Stannochlorid als Reduktionsmittel verwendet wurde.

Zu 0,5 ml des Filtrates kommen 1,5 ml 7%ige Trichloressigsäure, außerdem 1,6 ml Molybdat-Mischung² und 0,4 ml frisch hergestellte Stannochlorid-Lösung³. Das Gemisch wird 2 Minuten ins Wasserbad von 37° gebracht, anschließend 10 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das durch Stannochlorid aus der Phosphormolybdänsäure erzeugte blaue Reaktionsprodukt wird im Pulfrich-Photometer mit der 5 mm Cuvette und dem Filter S 57 gemessen und mittels der Eichkurve der Phosphatgehalt bzw. die Phosphormenge in γ berechnet.

Da die ATP und das Muskelgewebe bereits vor der Digestion freies anorganisches Phosphat enthalten, sind für jeden Versuch entsprechende *Leerwertbestimmungen* notwendig. Außerdem wurden in jedem Versuch zu Eichzwecken drei *Testlösungen* mit bekanntem Phosphorgehalt (2 γ , 6 γ , 10 γ) mitphotometriert. Die auf ihren Einfluß auf die ATPase-Aktivität zu untersuchenden Substanzen können die Entwicklung der *Blaufärbung hemmen*, oder zufolge *Trübung* die photometrische Bestimmung fälschen. Um solche Fehler zu erkennen, haben wir neben den drei Testlösungen eine weitere Testlösung (6 γ P) mit Zusatz der Versuchssubstanz in max. Konzentration mitphotometriert und Versuche, bei welchen Trübungen oder Farbhemmungen auftraten, nicht ausgewertet. Wir kontrollierten auch das *pH* eines jeden Ansatzes vor der Digestion mit Lyphanpapier, nachdem durch zahlreiche Vergleichsbestimmungen mit einem pH-Meter die genügende Genauigkeit dieser einfachen Methode feststand. Ansätze mit einem pH unter 7,6 oder über 8,0 wurden ausgeschaltet.

Der Muskelbrei verliert durch Aufbewahren an Aktivität. Nach 24 Stunden beträgt die Aktivitätseinbuße im Eisschrank 15%, bei

² 5,0 ml Ammoniummolybdatlösung (5,84 g Ammoniummolybdat auf 100 ml dest. Wasser) + 5,0 ml 2n-H₂SO₄ + 10,0 ml dest. Wasser.

³ 0,1 ml Zinnchlorürlösung (10,0 g reinstes Stannochlorid + 25,0 ml konz. HCl) + 19,9 ml dest. Wasser.

Zimmertemperatur 30%. Die Herstellung des Muskelbreies erfolgte deshalb immer unmittelbar vor jedem Digestionsversuch.

Die Genauigkeit der Messungen wurde in zahlreichen Spezialversuchen mit $\pm 2\%$ ermittelt.

B. Vorversuche.

1. Digestionsversuche mit frischem und gekochtem Herz-Muskelbrei.

Um uns zu vergewissern, daß der ATP-Abbau in unsern Versuchen ein spezifisch-enzymatischer Spaltungsprozeß sei, haben wir neben Normal-Digestionsversuchen solche mit gekochtem Muskelbrei und ATP ohne Gewebezusatz durchgeführt.

Außer dem direkt bestimmbaren Phosphat haben wir in diesen Versuchen auch die Menge des sog. Hydrolyse-Phosphates (Gesamt-Phosphat) ermittelt, durch Kochen der Ansätze mit normaler Salzsäure während 7 Minuten und anschließender Phosphat-Bestimmung. Die Differenz Hydrolyse-Phosphat minus direkt bestimmbares Phosphat ergibt das sog. säurelabile Phosphat (gebundenes Phosphat), welches als Maß für die ATP-Menge dient.

Die Menge des Hydrolyse-Phosphates — aufgeteilt in direkt bestimmbares Phosphat und säurelabiles Phosphat — ist auf Abb. 1 je vor und nach der Digestion graphisch dargestellt.

Nur bei frischem Muskelbrei nimmt die Menge des direkt bestimmbaren Phosphates durch Digestion zu, bzw. tritt eine Ver-

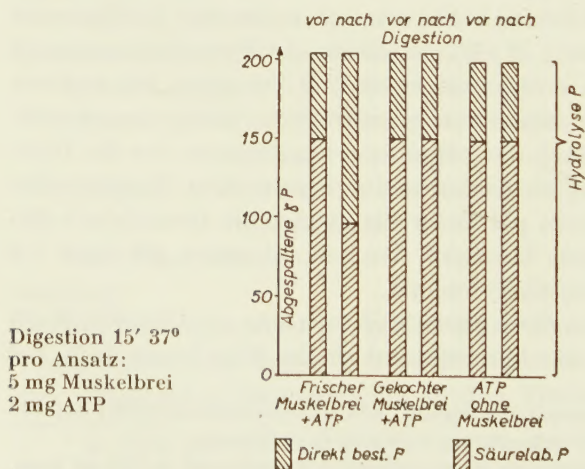


Abb. 1. Digestionsversuch mit frischem und gekochtem Herzmuskelbrei.

minderung des säurelabilen Phosphates ein, bei gekochtem Muskelbrei wie auch bei der ATP ohne Gewebezusatz bleibt die Menge des direkt bestimmbar Phosphates und des säurelabilen Phosphates vor und nach der Digestion dieselbe.

Dies bedeutet, daß *nur frisches Muskelgewebe imstande ist, anorganisches Phosphat aus der ATP abzuspalten*, daß gekochter Muskelbrei diese Fähigkeit nicht mehr besitzt, und auch die Temperatureinwirkung an sich die ATP-Lösung nicht verändert.

2. Einfluß der Digestionstemperatur.

Reines Myosin ist eines der temperaturempfindlichsten Proteine. Nach Engelhardt (15) verliert es bei 37° innert 10—20 Minuten seine Aktivität fast vollständig. Im warmblütigen Organismus ist Myosin weitgehend gegen Inaktivierung geschützt, wobei die ATP selbst als wichtigster Stabilisator wirken soll (15).

Wie aus Abbildung 2 ersichtlich ist, besitzt der von uns verwendete Muskelbrei im Vergleich zum Myosin eine geringere Temperaturempfindlichkeit.

Bei 0° (gemessen im Ansatz) zeigt der Muskelbrei praktisch keine ATPase-Aktivität, oberhalb 10° steigt sie jedoch rasch an. Bei 50° ist die maximale Aktivität erreicht, anschließend fällt die Kurve steil ab und bei Temperaturen über 90° fehlt die Aktivität wieder vollständig.

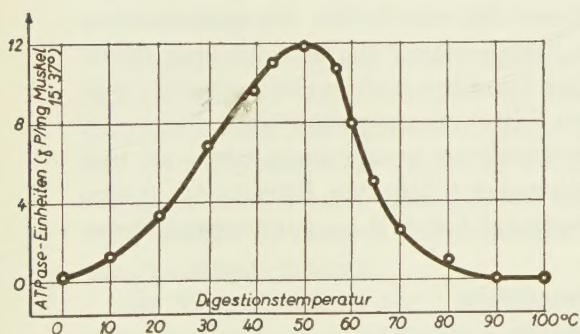


Abb. 2.

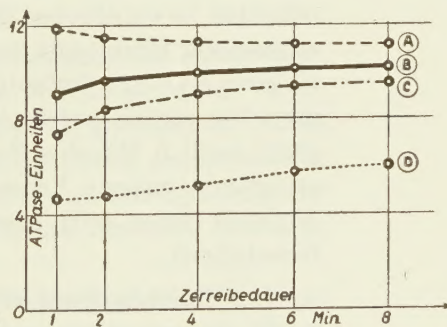


Abb. 3.

Abb. 2. Einfluß der Digestionstemperatur auf die Aktivität der ATPase.

Abb. 3. Einfluß der Zerreibedauer des Muskels auf die Aktivität der ATPase. — Kurve A = Aktivität des abgesetzten Anteils nach 15 Minuten Stehenlassen. — Kurve B = Aktivität des gut durchgerührten Muskelbreies. — Kurve C = Aktivität des überstehenden Anteils des Muskelbreies nach 15 Minuten Stehenlassen. — Kurve D = Aktivität im Filtrat.

Von 0° — 30° ist der Kurvenverlauf derart, daß eine Temperaturerhöhung von 10° eine Verdoppelung der Aktivität bewirkt.

Im Bereiche der normalen Digestionstemperatur von 37° bewirkt eine Temperaturdifferenz von 1° eine Aktivitätsvermehrung bzw. -verminderung von über 3%. Bei unseren Aktivitäts-Vergleichs-Versuchen achteten wir deshalb auf genauestes Einhalten der Digestionstemperatur von 37° (Verwendung eines großen Wasserbades und Thermostaten mit Temperaturdifferenzen von max. $0,2^{\circ}$).

3. *Einfluß der Zerreibedauer des Muskels.*

Muskelbrei, welcher nur kurze Zeit zerrieben wird, setzt sich bereits nach kurzem Stehenlassen in der zugefügten Flüssigkeit ab, während gut zerriebener Muskelbrei größtenteils während längerer Zeit suspendiert bleibt. Es schien uns mit Rücksicht auf konstante Versuchsergebnisse von Interesse, den Einfluß der Zerreibedauer auf die Aktivität der verschiedenen Anteile des Muskelbreies zu untersuchen.

Wird das Muskelgewebe nur kurze Zeit (1 Minute) homogenisiert, so zeigen sich nach 15 Minuten Stehenlassen des Muskelbreies große Aktivitätsunterschiede im abgesetzten Anteil (Kurve A) und im überstehenden Anteil des Muskelbreies (Kurve C). Die Aktivität des abgesetzten Anteiles ist zufolge seines größeren Gehaltes an Muskelgewebe bedeutend höher. Diese Differenzen verringern sich mit zunehmender Zerreibedauer. Die Aktivität des gut durchgemischten Gewebestreies (Kurve B), wie in den Normalversuchen angewandt, nimmt mit der Zerreibedauer zu, läßt sich aber durch längeres als durch 6minütiges Zerreiben nicht mehr wesentlich steigern. Die vergleichsweise im Filtrat gemessene Aktivität (Kurve D) steigt nach 6 Minuten Zerreibedauer immer noch leicht an und erreicht in unseren Versuchen bei 8 Minuten Zerreibedauer eine Aktivität von ca. 60%, bezogen auf Kurve B (= gut durchgerührter Gewebestreis).

4. *pH-Abhängigkeit der ATPase.*

In unseren Untersuchungen haben wir Veronal-Acetat-Puffer verwendet, nur bei den Aktivierungs-Versuchen mit NaCl ersetzten wir ihn durch reinen Veronal-Puffer.

Beide Aktivitätskurven erreichen in unseren Versuchen ein *Maximum bei* $pH = 7,8$. Nach der sauren Seite fallen die Kurven steil, nach der alkalischen Seite etwas flacher ab.

Wir haben alle unsere Versuche bei $\text{pH} = 7,8$ durchgeführt, um einerseits eine maximale Aktivität zu erreichen, andererseits aber auch deshalb, weil in diesem Bereich die Kapazität des Veronal-Acetat-Puffers am größten ist. Außerdem sind in Nähe des Kurvenscheitelpunktes kleine pH-Abweichungen von geringem Einfluß auf die Aktivität.

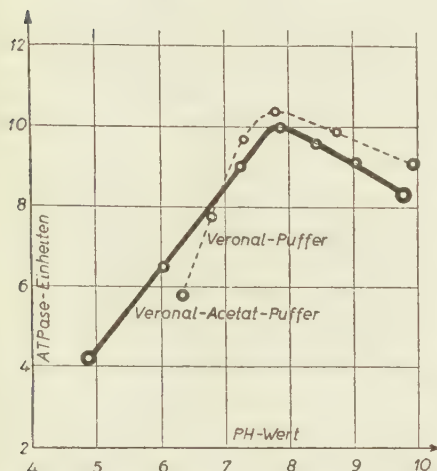


Abb. 4.

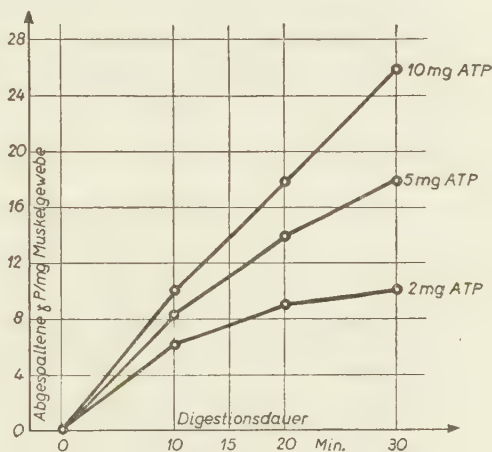


Abb. 5.

Abb. 4. Einfluß des pH auf die Aktivität der ATPase.

Abb. 5. Einfluß der ATP-Konzentration auf die Aktivität der ATPase.

5. Einfluß der ATP-Konzentration.

Engelhardt (15) hat darauf hingewiesen, daß das Mengenverhältnis von ATP und Muskelgewebe bzw. Myosin im Ansatz so gewählt sein muß, daß nicht mehr als ein Drittel, maximal die Hälfte der vorhandenen ATP gespalten wird, da *freies anorganisches Phosphat einen hemmenden Einfluß auf die weitere Spaltung der ATP ausübt*. In unseren Experimenten haben wir diese Beobachtung bestätigen können.

Im Versuch mit 10 mg ATP-Zusatz ist auch nach 30 Minuten Digestionsdauer nur ein Teil der ATP-Menge gespalten, die Kurve verläuft deshalb annähernd linear, während im Versuch mit 2 mg ATP-Zusatz fast die Hälfte der ATP-Menge gespalten wird und die hemmende Wirkung der freiwerdenden großen Menge Phosphates durch Flacherwerden der Kurve deutlich zum Ausdruck kommt.

In unseren Normal-Versuchen haben wir trotz diesen Feststel-

lungen nur 2 mg ATP pro Ansatz verwendet, weil uns nicht die Reinsubstanz, sondern eine fertige, relativ niedrig konzentrierte ATP-Lösung in Form des Handelspräparates ATRIPHOS zur Verfügung stand. Dieses Präparat enthielt neben Natriumchlorid leider auch viel freies Phosphat, im Durchschnitt etwa 20% des hydrolysierbaren Phosphates. Wir kontrollierten deshalb diese Lösung regelmäßig und haben Ampullen mit mehr als 25% freiem Phosphat nicht verwendet.

Nur für einige wenige Versuche wie z. B. die auf Abb. 5 dargestellten, stand uns ATP als Reinsubstanz zur Verfügung.

6. Einfluß der Fermentmenge.

Bei diesen Versuchen, in welchen alle Ansätze 5 mg ATP enthalten, verläuft die Kurve für den kleinsten Muskelbrei-Zusatz (2,5 mg) linear, während bei größerer Gewebezugabe (5 u. 10 mg) eine mit der Menge des abgespaltenen Phosphates übereinstimmende Abflachung der Kurven mit zunehmender Digestionsdauer auftritt.

Eine Proportionalität zwischen Fermentmenge und Wirkung besteht nur während den ersten Minuten Inkubation, mit Zunahme der Digestionszeit und der Fermentkonzentration wird die Wirkung der Ferment-Einheit immer kleiner.

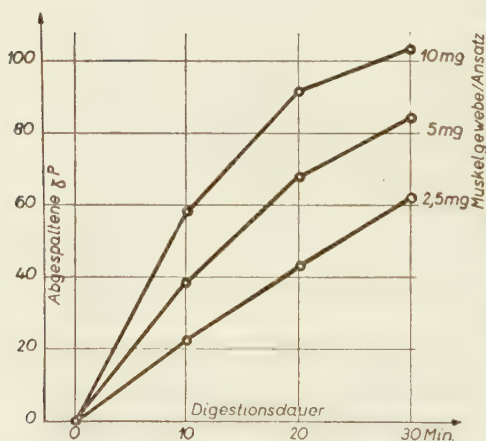


Abb. 6.

Abb. 6. Einfluß der Fermentmenge.

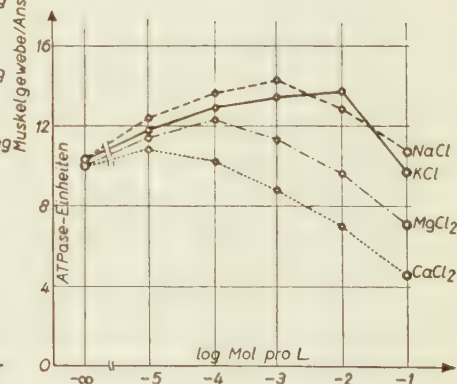


Abb. 7.

Abb. 7. Einfluß von Natrium-, Kalium-, Calcium- und Magnesium-Chlorid auf die Aktivität der ATPase.

C. Hauptversuche.

7. Einfluß von Natrium-, Kalium-, Calcium- und Magnesium-Chlorid.

Wir haben unsere Versuche, wie bereits unter Methodik erwähnt, mit homogenisiertem Herzmuskelbrei durchgeführt, welchem wir die zu untersuchenden Substanzen in steigender Konzentration zufügten, in den Abb. angegeben in log Mol pro L. Der erste Ansatz einer Versuchsreihe enthielt immer nur Muskelbrei + ATP ohne Zusatz der zu untersuchenden Substanz, der nachfolgende Ansatz 10^{-5} Mol pro L., der dritte 10^{-4} Mol pro L., usf. bis maximal 10^{-1} Mol pro L. Die Versuche einer Reihe wurden immer gleichzeitig ausgeführt.

Die *Aktivität des Muskelbreies* ohne aktivierenden oder hemmenden Zusatz betrug im Durchschnitt 10 ATPase-Einheiten.

In unseren Versuchen bewirkte Natriumchlorid die stärkste Aktivitätssteigerung. Sie beträgt ca. 40% bei einer Kochsalzkonzentration von 10^{-3} Mol pro L. Kaliumchlorid folgt mit einer Aktivitätssteigerung von 35% bei einer Konzentration von 10^{-2} Mol pro L. Magnesiumchlorid, welches wir vergleichsweise mitbestimmten, erwies sich als nur halb so wirksam wie Natriumchlorid.

Einen nicht erwarteten Verlauf zeigt die Calcium-Kurve. Sie erreicht bei einer CaCl_2 -Konzentration von 10^{-5} Mol pro L. ihr auffallend niederes Maximum. Calciumchlorid-Konzentrationen von 10^{-3} Mol pro L. und höher hemmen ähnlich wie MgCl_2 die ATPase-Aktivität.

Da gereinigtes Myosin nach Untersuchungen von Engelhardt (15), Banga und Szent-Györgyi (18, 28, 29) durch Calciumchlorid ein Vielfaches gesteigert wird, fragten wir uns, ob die *schwache aktivierende Wirkung des Calcium-Salzes in unseren Versuchen auf das Vorhandensein einer annähernd optimalen Calcium-Menge* in unserem Muskel-Homogenisat zurückzuführen sei.

In *Untersuchungen mit calciumfällenden Substanzen*, durch welche wir das im Muskelbrei vorhandene Calcium eliminierten, konnten wir diese *Vermutung bestätigen* (Abb. 8).

Wird der Muskelbrei vor der Verteilung in die Ansätze mit Natriumoxalat vermischt (Endkonzentration 0,002 Mol pro L.) beginnt die Calcium-ATPase-Aktivitätskurve wesentlich tiefer, um dann aber einen entsprechend steileren und höheren Anstieg zu zeigen. Das Aktivitätsmaximum der normalen Calcium-Kurve findet

sich bei einer CaCl_2 -Konzentration von 10^{-5} Mol pro L. und liegt 8% höher als der Ausgangspunkt. In der Kurve mit Oxalat-Zusatz findet sich die höchste Aktivität bei einer Konzentration von 10^{-4} Mol pro L. CaCl_2 , mit einer Aktivitätssteigerung von 43%.

Ähnlich verlaufende Kurven erhielten wir auch durch Zugabe von Natrium-Bikarbonat (Endkonzentration 0,1 Mol pro L.) während bei Natriumfluorid-Zugabe (Kurve 4, Abb. 8) bei tiefstem Ausgangswert die Höhe der Calcium-Kurve in keiner CaCl_2 -Konzentration erreicht wird.

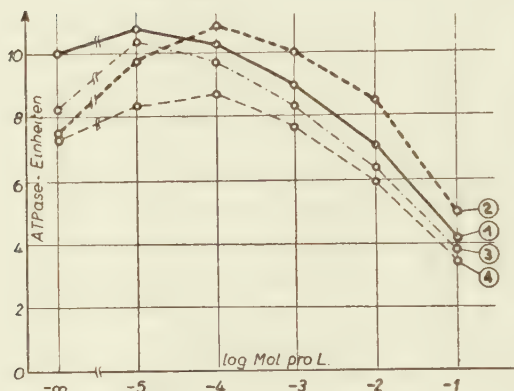


Abb. 8.

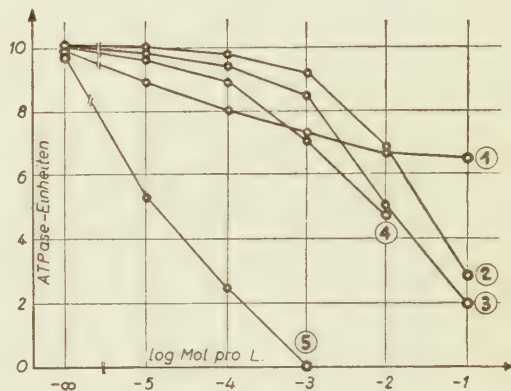


Abb. 9.

Abb. 8. Einfluß von Calcium in Kombination mit calciumfällenden Substanzen. 1 = Calciumchlorid ohne fällende Substanz. 2 = 0,002 Mol pro L. Natriumoxalat + Calciumchlorid. 3 = Oxalat-vergiftetes Tier + Calciumchlorid. 4 = 0,002 Mol pro L. Natriumfluorid + Calciumchlorid.

Abb. 9. Einfluß von Urethan (1), Natriumoxalat (2), Natriumfluorid (3), Veratrin (4) und Kupfersulfat (5) auf die Aktivität der ATPase.

8. Einfluß von Veratrin, Urethan, Oxalat und Fluorid.

Wie erwartet, zeigen diese Substanzen, besonders in höheren Konzentrationen, eine *eindeutige hemmende Wirkung auf die Aktivität der ATPase*. Bei einer Konzentration von 0,1 Mol pro L. hemmt Urethan die Aktivität um 37%. Bei gleichem Zusatz ist die Aktivitätsverminderung durch Oxalat 72%, durch Fluorid 79%. Veratrin konnte nur bis zu einer Konzentration von 0,01 Mol pro L. untersucht werden und erwies sich außer Kupfersulfat mit 56% als stärkst hemmende Substanz in diesem Konzentrationsgebiet. Da uns aus einer Publikation Engelhardts (15) Kupfer als stark inaktivierendes Ion bekannt war, haben wir auch vergleichsweise Versuche mit Kupfersulfat durchgeführt. Bei einer Konzentration von 10^{-3} Mol pro L. blockiert Kupfersulfat die ATPase vollständig.

9. Einfluß verschiedener Pharmaka.

Zur Abklärung der Frage, ob die Aktivierung durch CaCl_2 , KCl , NaCl , MgCl_2 , bzw. die hemmende Wirkung von Oxalat, Fluorid, Urethan und Veratrin eine spezifische Eigenschaft dieser Substanzen sei, oder ob nicht auch andere Stoffe eine ähnliche Wirkung besitzen, haben wir verschiedene Pharmaka auf ihren Einfluß auf die Aktivität der ATPase untersucht. Ein großer Teil der erhaltenen Resultate konnte aus den in Abschnitt Methodik erwähnten Gründen nicht ausgewertet werden:

Fällungen und Trübungen: Atropin, Strychnin, Chinin, Cocain, Curarin, Glucose, Sublimat, Bariumchlorid, Zinkchlorid, Aneurin, Kaliumpermanganat, Physostigmin, Viscum album, Silbernitrat;

Hemmung der Blaufärbung: Strychnin, Wasserstoffsuperoxyd, Aluminiumchlorid, Natriumnitrit;

Über- bzw. Unterschreiten der zulässigen pH-Grenze: Chinin, Wasserstoffsuperoxyd, Sublimat, Aluminiumchlorid;

Inkompatibilität mit Phosphaten.

Wir haben in Abb. 10 die erhaltenen Resultate aufgezeichnet. Kurven, welche sich praktisch decken, haben wir übersichtlichkeithalber als eine Kurve dargestellt. Die höchste der in den vorangehenden Versuchen verwendete Konzentration von 0,1 Mol pro L. konnte bei diesen Stoffen aus lösungstechnischen und anderen Gründen (Überschreiten der pH-Limite usw.) mit Ausnahme des Chloralhydrates nicht untersucht werden, Picrotoxin, Pilocarpin und Percorten nur bis 10^{-3} Mol pro L., doch ermöglichen auch die kürzeren Kurven eine Beurteilung der Wirkungsweise dieser Stoffe.

Die Versuche ergaben, daß alle untersuchten Substanzen — mit Ausnahme des Chloralhydrates — die Aktivität der ATPase nur unwesentlich beeinflussen. Nur in den höchsten Konzentrationen zeigt ein Teil dieser Substanzen eine geringe hemmende Wirkung, am deutlichsten das Kalium-Cyanid, etwas weniger Picrotoxin, Pilocarpin und Percorten. Eine eigentlich aktivierende Wirkung weist keiner dieser Stoffe auf.

Das einzige auffallende Resultat ist dasjenige des Chloralhydrates. Es erweist sich als deutlich ATPase hemmend: 45% bei 0,1 Mol pro L. und übertrifft damit sogar die Wirkung des Urethans in diesem Konzentrationsbereich.

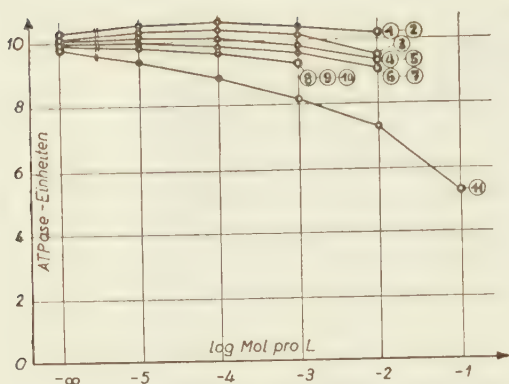


Abb. 10.

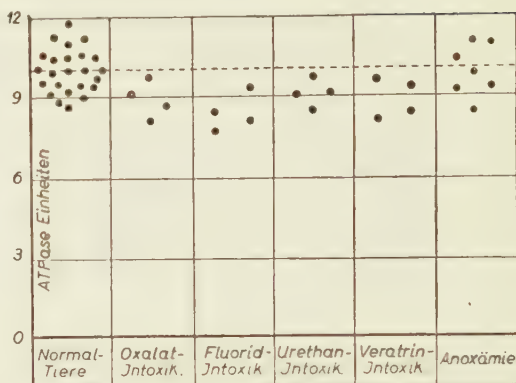


Abb. 11.

Abb. 10. Einfluß verschiedener Pharmaka auf die Aktivität der ATPase.

1 = Natriumarseniat, 2 = Natriumsalicylat, 3 = Kaliumcyanid, 4 = Morphin hydrochlor., 5 = Acetylcholin, 6 = Adrenalin, 7 = Veronal-Natrium, 8 = Picrotoxin, 9 = Pilocarpin, 10 = Desoxycorticosteron (Percorten Ciba), 11 = Chloralhydrat.

Abb. 11. Aktivität des Herzmuskel-Homogenisates von Oxalat-, Fluorid-, Urethan- und Veratrin-vergifteten Tieren im Vergleich zu Normaltieren und Anoxämie-Tieren.

10. ATPase-Aktivität des Herzmuskel-Homogenisates von Oxalat-, Fluorid-, Urethan- und Veratrin-vergifteten Tieren im Vergleich zu Normaltieren und Anoxämie-Tieren.

Die eine elektrokardiographisch kontrollierbare e. d. H. I. erzeugenden Stoffe: Oxalat, Fluorid, Urethan und Veratrin, welche gemäß Abb. 9 die Aktivität der ATPase deutlich hemmen, haben wir auch im Tierexperiment untersucht.

Wir injizierten diesen Tieren intraperitoneal eine innert 10—20 Minuten zum Exitus führende Dosis (Oxalat und Fluorid 5,0 ml 0,1-molare Lösung, Urethan 5,0 ml 10%ige Lösung, Veratrin 5 mg). Das Herz dieser Tiere wurde sofort nach erfolgtem Stillstand, wie früher unter Methodik beschrieben, zu Brei verarbeitet und die ATPase-Aktivität ohne Zusätze gemessen.

Außerdem kontrollierten wir die Aktivität der ATPase bei Anoxaemie-Tieren (Abklemmen der freigelegten Trachea in leichter Aethernarkose).

Die Versuchsergebnisse sind in Abb. 11 zusammengestellt und zum Vergleiche Werte bei Normaltieren beigelegt.

Sämtliche nach Intoxikation mit diesen Stoffen erhaltenen

ATPase-Aktivitäts-Werte liegen unter dem für Normaltiere geltenden Mittelwert, durchschnittlich 15%. Die bei Anoxaemie festgestellte mittlere Aktivität zeigte eine wesentlich geringere Abweichung vom Mittel bei Normaltieren.

11. Einfluß von Strophantin und Digitalis.

Diese Untersuchungen wurden mit Reinsubstanzen von Strophosid und Digilanid ausgeführt (von der Fa. Sandoz, Basel, in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt). Beide Substanzen zeigen eine fördernde Wirkung auf die Aktivität der ATPase (Abb. 12), und zwar maximal 22% durch Strophosid bei einer Konzentration von $2,5 \cdot 10^{-5}$ Mol pro L. und maximal 20% durch Digilanid bei etwas höherer Konzentration.

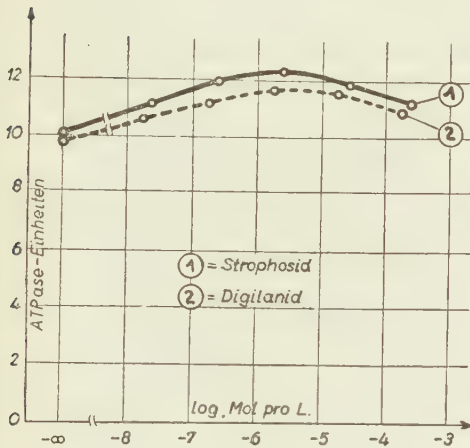


Abb. 12.

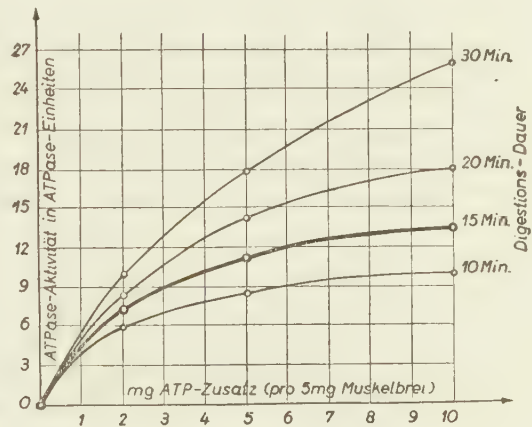


Abb. 13.

Abb. 12. Einfluß von Strophanthin und Digitalis auf die Aktivität der ATPase.

Abb. 13. Abhängigkeit der ATPase-Aktivität von der ATP-Konzentration.

D. Diskussion der Ergebnisse.

Daß in unseren Experimenten der ATP-Abbau auf einer fermentativen Wirkung beruht, haben nicht nur die Versuche mit nativem und gekochtem Muskelbrei (Abb. 1) bewiesen, auch der gefundene Einfluß der Digestionstemperatur spricht in diesem Sinne, da die erhaltene *Temperaturoptimum-Kurve* (Abb. 2) Ähnlichkeit mit analogen Kurven anderer bekannter Fermente aufweist. Die *relative Temperaturunempfindlichkeit* der ATPase in unseren Versuchen erklärt sich dadurch, daß wir nicht mit dem

reinen Enzym, sondern mit Muskelbrei arbeiteten und deshalb die ATPase durch die vorhandenen *Schutzkolloide* stabilisiert worden ist. Die festgestellte Beziehung zwischen pH und ATPase-Aktivität (*Reaktionsoptimum-Kurve* Abb. 4) bestätigt ebenfalls das Vorliegen eines fermentativen Spaltungsprozesses.

Da die Abklärung der *Substrat-spezifischen Wirkung* der ATPase nicht zu unserer Problemstellung gehörte, von *Bailey* (23), *Dubois* und *Potter* (24), *Engelhardt* (15), *Needham* (35) und anderen Autoren Untersuchungs-Ergebnisse vorliegen, haben wir uns nicht näher mit dieser Frage beschäftigt.

Wir führten unsere Versuche wie mehrfach erwähnt nicht mit reinem Myosin durch, sondern nach einer von *Dubois* und *Potter* (24) beschriebenen Methode, bei welcher ein *homogenisierter Herzmuskelbrei* zur Anwendung gelangt. Diese relativ einfache Methode ergibt, wie die Versuche von *Dubois* und *Potter* zeigten, nicht nur genaue Resultate, sondern kommt u. E. den Bedingungen beim Lebenden viel näher als Versuche mit reinem Myosin. Muskelbrei besitzt im Gegensatz zu Myosin auch ohne Zusätze eine beträchtliche Aktivität. Es kann deshalb mit dieser Methode nicht nur die in einem Versuche auftretende Förderung, sondern auch eine vorhandene Herabsetzung der ATPase-Aktivität genau erfaßt werden.

Unsere Untersuchungen über den *Einfluß der ATP-Konzentration* (Abb. 5) und den *Einfluß der Fermentmenge* (Abb. 6) haben sehr deutlich die *hemmende Wirkung des durch Spaltung freiwerdenden Phosphates* gezeigt. Zuzufolge dieser auftretenden Hemmung besteht nur eine *beschränkte Proportionalität zwischen Substratmenge und Wirkung*, sowie *Fermentmenge und Umsatz*. Mit zunehmender Konzentration des Substrates bzw. des Fermentes nimmt die Wirkung der Einheit ab, weil zufolge der Affinität des Spaltproduktes zum Ferment, ein immer größerer Teil desselben seiner eigentlichen Aufgabe entzogen wird. Die Hemmung wird deutlich, wenn mehr als ein Drittel der vorhandenen ATP gespalten ist, und es tritt dann eine mit der Menge des freiwerdenden Phosphates übereinstimmende Abflachung der Kurven auf.

Die Versuche zeigen außerdem die *Abhängigkeit der in einem Experiment gefundenen ATPase-Aktivität, ausgedrückt in ATPase-Einheiten, von der verwendeten ATP-Konzentration*. Deutlicher als aus Abb. 5 geht dies aus Abb. 13 hervor, welche durch Umrechnung der Werte aus Abb. 5 entstanden ist.

Die Aktivität der ATPase beträgt in diesen Versuchen bei 10 Minuten Digestionsdauer und 2 mg ATP-Zusatz ca. 6 ATPase-Einheiten, für 10 mg Zusatz 10 Einheiten. Bei 30 Minuten Digestionsdauer ist die Differenz noch wesentlich größer; denn die Werte betragen 10 Einheiten für 2 mg ATP-Zusatz und 26 Einheiten für 10 mg ATP-Zusatz.

Da in der Definition der ATPase-Einheit nach *Dubois* und *Potter* die ATP-Konzentration nicht speziell erwähnt wird, muß deshalb beim Vergleich der von verschiedenen Autoren veröffentlichten Werte auf die verwendete ATP-Konzentration geachtet werden.

Die festgestellte *Beziehung zwischen ATP-Konzentration und ATPase-Aktivität* läßt vermuten, daß auch die *ATP-Menge von großer Bedeutung für die Herzaktion* ist, und bestätigt die Resultate spezieller Untersuchungen über den ATP-Gehalt im Herzmuskel unter normalen und pathologischen Bedingungen von *Burns* und *Cruickshank* (36), *Weicker* (37), *Berg* (38), *Chen* und *Geiling* (39, 40) und *H. Grauer* (26, 27), Speziell *Grauer* hat auf Grund seiner Arbeiten auf die Wichtigkeit der ATP-Menge im Herzmuskel hingewiesen und für den ATP-Mangel den Begriff «*Substrat-Insuffizienz*» geprägt, im Gegensatz zur «*Ferment-Insuffizienz*», d. h. der ATPase-Hemmung. Er schließt aus seinen Versuchen, daß die hämodynamische Herzinsuffizienz, wie auch das Erlöschen der Herztätigkeit bei Anoxaemie, letztlich auf einem Erschöpfen der Energiereserven (ATP-Mangel) beruht.

Unsere Untersuchungen über die *pH-Abhängigkeit der ATPase* ergaben für die von uns verwendeten Puffergemische (Veronalacetat- und reinen Veronal-Puffer) ein *Optimum bei pH = 7,8*. *Dubois* und *Potter* (24), welche ebenfalls mit Muskelbrei arbeiteten, fanden ein Aktivitätsmaximum bei *pH = 8,7*. *Engelhardt* (15) hat für reines Myosin eine zweigipflige pH-Kurve veröffentlicht mit einem ersten Aktivitätsmaximum bei *pH = 6,3* und einem zweiten bedeutend höheren bei *pH = 8,9*, während *Laki* (41) ebenfalls für reines Myosin einen Optimalwert bei *pH = 7,4* und *Bailey* (23) bei *pH = 9,0* feststellte.

Der gefundene Kurvenverlauf zeigt, daß das *pH von großem Einfluß auf die ATPase-Aktivität* ist, und es darf angenommen werden, daß auch *in vivo* größere Abweichungen vom pH-Optimum, d. h. eine *Acidose bzw. eine Alkalose, eine ATPase-Hemmung* verursachen können.

Auch die Beziehung zwischen Temperatur und ATPase-Aktivität ergibt eine Optimum-Kurve, doch liegt der Kurven-Scheitelpunkt bei 50°, also bei einer mit dem Leben nicht mehr vereinbaren Temperatur. Für den klinisch interessierenden Temperatur-Bereich besteht deshalb eine direkte Relation zwischen Temperatur und ATPase-Aktivität.

Die Ergebnisse unserer Aktivierungsversuche mit NaCl und KCl stimmen weitgehend mit denjenigen anderer Autoren überein, insbesondere mit den von Dubois und Potter (24) veröffentlichten Werten, welche für ihre Experimente ebenfalls Muskelbrei verwendet haben, jedoch bei höherer ATP-Konzentration etwas höhere Kurven erhielten. Engelhardt (15), Bailey (23), Banga und Szent-Györgyi (18, 28, 29), welche mit gereinigtem Myosin arbeiteten, haben entsprechend ihrer niederen Ausgangswerte eine viel stärkere Aktivierung gefunden (bis zum 10fachen des Ausgangswertes).

Immerhin zeigen auch unsere Versuche eine eindeutige Aktivierung der ATPase durch NaCl und KCl.

Auf die Besonderheit unserer Calcium-Aktivierungskurven haben wir bereits früher hingewiesen. Nach Ausfällen der offenbar großen Menge von Calcium in dem von uns verwendeten Muskelbrei konnten wir die starke aktivierende Wirkung von Calcium auf die ATPase beweisen (Kurve 2, Abb. 8).

Es ist auffallend, daß in allen Calcium-Versuchen die Werte für die höchsten Calcium-Konzentrationen wesentlich unter dem Ausgangspunkt (keine Calcium-Zugabe) liegen, so daß hohen Calcium-Konzentrationen eine eindeutige ATPase hemmende Wirkung zugesprochen werden muß, während optimale Calcium-Mengen die ATPase-Aktivität fördern.

Sehr klar sind die Resultate der Hemmungsversuche mit Fluorid, Oxalat, Veratrin, Urethan und Kupfersulfat ausgefallen (Abb. 9). Es besteht bei all diesen Stoffen eine direkte Beziehung zwischen Konzentration und Intensität der Hemmung der ATPase.

Etwas auffallend ist nur der Verlauf der Urethan-Kurve, welche im Gegensatz zu allen anderen Kurven im Bereich der höheren Konzentration flacher wird.

Nach Engelhardt (15) sind Kupfer- und Silber-Ionen, nach Bailey (23) Kupfer- und Quecksilber-Ionen die stärkst ATPase-hemmenden Substanzen. Auch unter den von uns untersuchten

Stoffen erwies sich Kupfer als weitaus stärkster Inaktivator der ATPase. (AgNO_3 und HgCl_2 schieden in unseren Versuchen aus.)

Die hemmende Wirkung des Fluorids hat *Engelhardt* (15) allein auf die calciumfällende Wirkung zurückgeführt. In Kurve 4, Abb. 8, erreicht die Calcium-Kurve nach Fluorid-Zugabe die normale Calcium-Kurve in keinem Konzentrationsgebiet, so daß wir die Ansicht vertreten, daß *Fluorid neben der calciumfällenden eine unmittelbar die ATPase hemmende Wirkung besitzt*.

Die *ATPase-Aktivitätswerte des Herzmuskel-Homogenisates, der mit Fluorid, Oxalat, Veratrin und Urethan vergifteten Tiere* (Abb. 11) sind weniger deutlich ausgefallen als erwartet, doch könnte die in vivo bestandene stärkere Hemmung der ATPase durch die Verarbeitung des Herzmuskels nachträglich wieder rückgängig gemacht worden sein.

Von den Resultaten der von uns untersuchten diversen Pharmaka konnten, wie bereits genauer beschrieben, nur ein kleiner Teil verwertet werden.

Als ATPase hemmende Substanzen waren uns außer den erwähnten Schwermetallverbindungen aus der Literatur auch Chinin und Plasmochin (39, 40, 42) sowie Wasserstoffsuperoxyd (15) bekannt. Wir haben diese Substanzen geprüft, aber keine verwertbaren Resultate erhalten. Hingegen haben wir die Beobachtungen von *Engelhardt* (15) bestätigen können, daß Cyanide — welche bekanntlich die eisenhaltigen Oxydasen blockieren — ohne größeren Effekt auf die ATPase sind.

Die indifferente Wirkung verschiedener von uns untersuchter Substanzen hat uns insofern überrascht, als es sich zum Teil um hochgradig toxische Stoffe handelt.

Wie eingangs erwähnt, haben wir, von klinischen und tierexperimentellen Untersuchungen ausgehend (*Hegglin*, 4; *Rothlin*, *Suter* und *Bircher*, 43, 44), welche eine QT-Verkürzung durch Einwirkung größerer Dosen von herzaktiven Glycosiden ergeben hatten, den *Einfluß von Strophantin und Digitalis auf die ATPase-Aktivität* untersucht. Durch die festgestellte Aktivierung der ATPase von 20% für *Digilanid* und 22% für *Strophosid* (Durchschnitt vieler Versuche) unterscheiden sich die herzaktiven Glycoside deutlich von der indifferenten Wirkung der diversen Pharmaka (Abb. 10).

Unsere Resultate werden durch die Beobachtungen *Weickers*

(37), Chen und Geilings (39, 40) sowie Wollenbergers (45) gestützt, welche eine Verminderung der ATP-Menge im Herzmuskel bei überdosierten Strophantinnungen fanden.

Wie bei den die ATPase eindeutig aktivierenden Substanzen: NaCl, KCl in Abb. 7 und CaCl_2 in Abb. 8 findet sich auch bei *Strophosid*- und *Digilanid*-Kurven ein Optimum. Die Werte für die höchsten verwendeten Konzentrationen ($2,5 \cdot 10^{-4}$ Mol pro L.) liegen wieder wesentlich unter dem Maximum, jedoch immer noch über dem Ausgangswert (kein *Strophosid*- bzw. *Digilanid*-Zusatz).

Da wir unsere Versuche mit herzaktiven Glycosiden mit Konzentrationen in Milligramm durchführten und erst später die Kurven unter Berücksichtigung der genauen Molekulargewichte (*Strophosid* 840, *Digilanid* 933) auf molare Konzentration umrechneten, haben wir leider die höheren Konzentrationen nicht berücksichtigt.

Der Kurvenverlauf spricht dafür, daß bei *sehr hohen Strophantin- und Digitalis-Dosen eine Hemmung der ATPase-Aktivität analog der Wirkung hoher CaCl_2 -Konzentration auftreten könnte.*

Wir haben auf Grund verschiedener Beobachtungen eingangs die *Hypothese* aufgestellt, daß *zwischen e.d.H.I. und ATPase-Aktivität eine enge Beziehung bestehe. Unsere Versuche haben diese Vermutung bestätigt, denn:*

alle Stoffe, bei deren Mangel eine e.d.H.I. auftritt, sind Aktivatoren der ATPase,

alle Substanzen, welche tierexperimentell wie klinisch eine e.d.H.I. erzeugen, hemmen die ATPase-Aktivität.

Digitalis und Strophantin, welche in großen Dosen eine QT-Verkürzung bewirken, fördern die ATPase-Aktivität,

und der gefundene Einfluß von Temperatur und pH auf die Aktivität der ATPase entspricht der klinischen Erfahrung, daß Hypothermie, Acidose und Alkalose (Bellet und Dyer, 46; Lawrence und Allot, 47) eine QT-Verlängerung, die Hyperthermie eine QT-Verkürzung bewirkt.

Die auffallende Übereinstimmung der klinischen, tierexperimentellen und Laboratoriumsuntersuchungen läßt es deshalb als wahrscheinlich erscheinen,

daß eine QT-Verlängerung durch eine Herabsetzung der ATPase-Aktivität, eine QT-Verkürzung durch eine Förderung der ATPase-Aktivität bewirkt werden kann. Dieses Gesetz beansprucht allerdings keine Allgemeingültigkeit.

Die die ATPase beeinflussenden Faktoren haben wir in Grup-

pen zusammengefaßt und in Abb. 14 schematisch festgehalten. Die Wirkung der Substratmenge (ATP-Konzentration) geht aus Abb. 13 hervor.

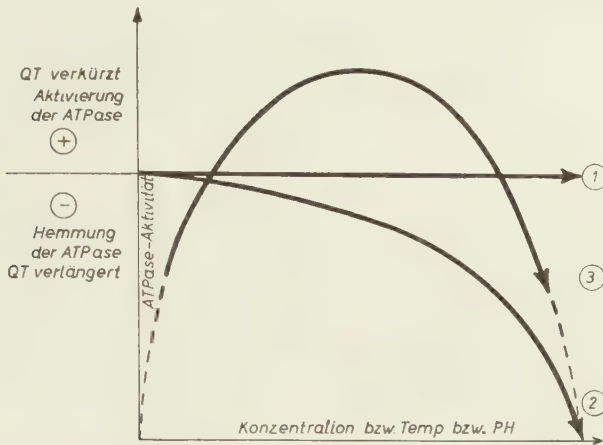


Abb. 14. Schematische Darstellung der die ATPase beeinflussenden Faktorengruppen. — Gruppe 1. *Indifferente Faktoren*: Beispiele: Natriumarseniat, Kaliumcyanid. — Gruppe 2. *Hemmende Faktoren*: Beispiele: Oxalat (Calcium-fällend), Veratrin, Kupfersulfat (Fermentgifte). — Gruppe 3. *Fördernde Faktoren*: Beispiele: pH, Temperatur, NaCl, KCl, CaCl₂, herzwirksame Glycoside.

Die Wirkungsweise der die ATPase fördernden Stoffe läßt sich übereinstimmend als Optimumkurve darstellen. Nur in einem bestimmten—optimalen—Konzentrationsbereich wird die maximale Aktivität erreicht, eine zu geringe wie eine zu hohe Konzentration wirkt hemmend auf die ATPase-Aktivität. Diese Substanzen entsprechen deshalb in ihrem Effekt den physiologischen Faktoren pH und Temperatur, sind wahrscheinlich ebenfalls *physiologischerweise* für die Aktivität der ATPase notwendig, d.h. im weitesten Sinne als *Co-Fermente* zu betrachten.

Es ist u. E. möglich, daß diese Feststellungen auch für die herzwirksamen Glycoside Geltung besitzen, denn nach Rein (48) soll die Leber physiologischerweise einen dem Strophantin ähnlichen Stoff an das Herz abgeben und ihrer chemischen Struktur gemäß gehören die herzwirksamen Glycoside zu den Steroiden (Cholesterin, Ergosterin, Sexualhormone, Hormone der Nebenniere, Gallensäuren etc.), welche bekanntlich in der pflanzlichen und tierischen Biochemie hauptsächlich als Co-Fermente von größter Bedeutung und Wirksamkeit sind. Der geringere aktivie-

rende Effekt der herzwirksamen Glycoside gegenüber NaCl und KCl in unseren Versuchen könnte dadurch bedingt sein, daß, analog unseren Calciumversuchen, die *volle Wirkung der herz-aktiven Glycoside nur am insuffizienten Herzmuskel* deutlich wird.

Andererseits muß angenommen werden, daß alle von uns untersuchten Substanzen, außer ihrer Wirkung auf die ATPase, noch andere Angriffspunkte am Herzmuskel-Chemismus besitzen.

Zusammenfassung.

Davon ausgehend, daß Störungen im Mineralstoffwechsel sowie bestimmte Intoxikationen die sog. energetisch-dynamische Herzinsuffizienz verursachen (QT-Verlängerung im EKG., vorfallender II. Herzton), haben wir den Einfluß verschiedener Substanzen auf die Aktivität der Adenosintriphosphatase (ATPase) untersucht.

Kalium-, Natrium-, Calcium-, Magnesiumchlorid und die herzwirksamen Glycoside Strophosid und Digilanid fördern die Aktivität der ATPase.

Veratrin, Urethan, Fluorid, Oxalat, Chloralhydrat und Kupfersulfat hemmen die Aktivität der ATPase.

Acetylcholin, Adrenalin, Desoxycorticosteron, Kaliumcyanid, Morphinum hydrochlor., Natriumarseniat, Natriumsalicylat, Pikrotoxin, Pilocarpin und Veronal-Natrium beeinflussen die Aktivität der ATPase nur unwesentlich.

Die Ergebnisse unserer Versuche lassen auf eine direkte Beziehung zwischen ATPase-Aktivität und dem Vorkommen der energetisch-dynamischen Herzinsuffizienz schließen, und es kann angenommen werden, daß manche Formen einer QT-Verlängerung auf einer Hemmung, manche Beobachtungen einer QT-Verkürzung auf einer Förderung der Aktivität der ATPase beruhen.

Summary.

Acting on the assumption that abnormalities in electrolyte metabolism and certain varieties of intoxication cause the so-called "energetic-dynamic cardiac insufficiency" (i.e. a type of cardiac insufficiency primarily due to a reduced force of contraction, in turn resulting from metabolic disturbances; characterised by lengthening of Q-T intervals and prematurity of the second heart sound), the effect of various substances on the activity of adenosintriphosphatase (ATP) was investigated.

Potassium-, sodium-, calcium-, and magnesium-chloride, and the cardiac glucosides Strophosid and Digilanid enhance the activity of ATP.

Veratrine, urethane, fluoride, oxalate, chloral hydrate, and copper sulphate inhibit the activity of ATP.

Acetylcholine, adrenaline, desoxycorticosterone, potassium cyanide, morphin. hydrochlor., sod. arseniate, sod. salicyl., picrotoxin, pilocarpine, and veronal-sodium have only a negligible effect on the activity of ATP.

The results of these investigations suggest a direct relationship between activity of ATP and occurrence of the energetic-dynamic cardiac insufficiency. Certain varieties of lengthening of the Q-T interval appear attributable to an inhibition of ATP, whereas in some instances of shortening of the Q-T interval enhancement of activity of ATP seems the underlying factor.

Résumé.

L'insuffisance myocardique du type Hegglin (energetisch-dynamische Herzinsuffizienz) étant causée aussi bien par des troubles du métabolisme minéral que par des intoxications (avec un allongement de l'espace Q-T de l'ECG associé à une prématuration du II^e bruit du phonocardiogramme), nous avons étudié l'action de différentes substances sur l'activité de la triphosphatase de l'adénosine (ATPase).

Les chlorures de potassium, calcium, sodium et magnésium, ainsi que les glycosides actifs strophoside et digilanide favorisent l'activité de l'ATPase.

La vératrine, l'uréthane, le fluorure, l'oxalate, l'hydrate de chloral et le sulfate de cuivre inhibent l'activité de l'ATPase.

L'acétylcholine, l'adrénaline, le désoxycorticostérone, le cyanure de potassium, l'hydrochlorate de morphine, l'arséniate de sodium, le salicylate de sodium, la picrotoxine, la pilocarpine et le veronal-sodique, n'ont qu'une action insignifiante sur l'activité de l'ATPase.

Les résultats de nos recherches permettent de conclure qu'il y a une relation directe entre l'activité de l'ATPase et l'apparition de l'insuffisance métabolique du myocarde de Hegglin. On peut même admettre que de nombreuses formes, soit de l'allongement, soit du raccourcissement de l'espace Q-T de l'ECG, sont dus respectivement à une inhibition et à une activation de l'ATPase.

Meinen herzlichen Dank Herrn Prof. Löffler für die zur Verfügung gestellten Arbeitsräumlichkeiten und das Versuchsmaterial, Herrn P.-D. Dr. med. R. Hegglin für die Überlassung des Themas und Anregungen, Herrn Dr. med. H. Grauer für wertvolle Ratschläge.

Literatur.

1. Hegglin, R.: Schweiz. Med. Wschr. 74, 1104, 1944. — 2. Hegglin, R.: *Experientia* 1, 121, 1945. — 3. Hegglin, R.: Schweiz. Med. Wschr. 77, 674, 1947. — 4. Hegglin, R.: Die Klinik der energetisch-dynamischen Herzinsuffizienz. S. Karger, Basel 1947. — 5. Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 199, 629, 1939/40. — 6. Gremels, H.: Erg. Physiol. 42, 53, 1939. — 7. Engel: Dtsch. Med. Wschr. 1390, 1949. — 8. Mach, E., R. G. Mach, R. della Santa und H. Plattner: Praxis 353, 1949. — 9. Hadorn, W.: Schweiz. Med. Wschr. 78, 1238, 1948. — 10. Plattner, H.: Helv. Med. Acta 16, Suppl. 23, 1949. — 11. Schumann, H.: Z. exp. Med. 106, 59, 1939. — 12. Schumann, H.: Pflügers Arch. 243, 686, 1940. — 13. Grauer, H., und R. Hegglin: *Cardiologia* 11, 1, 1946. — 14. Grauer, H.: *Cardiologia* 12, 29, 1947. — 15. Engelhardt, V. A.: Adv. in Enzymology 6, 147, 1946. — 16. Muralt, A. v.: Ärztl. Monatshefte 2, 923, 1946. — 17. Rein, H.: Ber. Physiol. usw. 135, 438, 1949. — 18. Szent-Györgyi, A.: Chemistry of Muscular contraction Academic Press Inc. N. Y. 1947. — 19. Jacobsen, E.: Biochem. Z. 242, 292, 1931. — 20. Barrenscheen, H. K., und S. Lang: Biochem. Z. 253, 395, 1932. — 21. Engelhardt, V. A., und M. N. Lyubimova: Nature 144, 668, 1939. — 22. Price, W., und F. Cori: J. Biol. Chem. 162, 393, 1946. — 23. Bailey, K.: Biochem. J. 36, 121, 1942. — 24. Dubois, K. P., und V. R. Potter: J. Biol. Chem. 150, 185, 1943. — 25. Handler, Ph.: J. Biol. Chem. 161, 53, 1945. — 26. Grauer, H.: Helv. Medica Acta 14, 394, 1947. — 27. Grauer, H.: Der Adenosintriphosphorsäuregehalt des Rattenherzmuskels unter normalen und verschiedenen pathol. Bedingungen (noch nicht veröffentlicht). — 28. Banga, J., und A. Szent-Györgyi: Myosin and Muscular contraction. S. Karger, Basel, I, 5, 1941/42. — 29. Banga, J.: Myosin and Muscular contraction. S. Karger, Basel, I, 27, 1941/42. — 30. Szent-Györgyi, A.: Muscular contraction, Blood coagulation. S. Karger, Basel, III, 46, 1943. — 31. Weber, H. H.: Z. f. Elektrochemie u. angew. physikal. Chemie 55, 511, 1951. — 32. Lohmann, K., und L. Jendrossik: Biochem. Z. 178, 419, 1926. — 33. Kuttner, Th., und H. R. Cohen: J. Biol. Chem. 75, 517, 1927. — 34. Kuttner, Th., und L. Lichtenstein: J. Biol. Chem. 86, 671, 1930. — 35. Needham, D. M.: Biochem. J. 36, 113, 1942. — 36. Burns, W., und E. W. H. Cruickshank: J. Physiol. (Brit.) 91, 314, 1937. — 37. Weicker, Br.: Arch. Exp. Path. 178, 524, 1935. — 38. Berg, H.: Arch. Exp. Path. 185, 359, 1937. — 39. Chen, G., und E. M. K. Geiling: Proc. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol. 5, 169, 1946. — 40. Chen, G., und E. M. K. Geiling: Schweiz. Med. Wschr. 77, 25, 1947. — 41. Laki, K.: Muscular contraction, Blood coagulation. S. Karger, Basel, III, 16, 1943. — 42. Aschenbrenner, R. Z.: Klin. Med. 132, 537, 1937. — 43. Rothlin, E., und E. Suter: Helv. Physiol. Acta 5, 258, 1947. — 44. Suter, E., E. Rothlin und R. Bircher: Helv. Physiol. Acta 7, 1, 1949. — 45. Wollenberger, A.: Fed. Proc. 7, 266, 1948. — 46. Bellet and Dyer: Amer. Heart J. 13, 72, 1937. — 47. Lawrence and Allott: Brit. Heart J. 5, 128, 1943. — 48. Rein, H.: Klin. Wschr. 873, 1942.

Curriculum Vitae.

Geboren 1914 in Zürich. Nach Besuch der städtischen Primar- und Sekundarschule Lehre als technischer Zeichner mit abschließender Fachprüfung. Während der Tätigkeit als Konstrukteur, Besuch des Abend-Gymnasiums des Institutes «Juventus» Zürich. 1939 Eidg. Maturitätsprüfung Typus C nach 4jähriger Vorbereitung. Ergänzungsprüfung in Latein 1942.

1940—1947 Medizin-Studium an der Universität in Zürich. Eidgenössisches medizinisches Staatsexamen Frühjahr 1947, Zürich. Seit 1948 Assistent am Städtischen Krankenhaus in Baden.

